

**VYSOKÁ ŠKOLA BÁŇSKÁ –  
TECHNICKÁ UNIVERZITA OSTRAVA**

**Hornicko – geologická fakulta**

Institut environmentálního inženýrství

**SNÍŽENÍ OBSAHU TĚŽKÝCH KOVŮ V KALECH Z ČOV**

Diplomová práce

Autor práce:  
Vedoucí práce:

Bc. Petr Zapletal  
Doc. Dr. Ing. Radmila Kučerová

Ostrava 2013

**VŠB – TECHNICAL UNIVERSITY OF OSTRAVA**

**Faculty of Mining and Geology**

The Institute of Environmental Engineering

**REDUCTION OF HEAVY METALS CONTENT IN SEWAGE  
SLUDGE**

Thesis

Autor práce:  
Vedoucí práce:

Bc. Petr Zapletal  
Doc. Dr. Ing. Radmila Kučerová

Ostrava 2013

VŠB - Technická univerzita Ostrava  
Hornicko-geologická fakulta  
Institut environmentálního inženýrství

## Zadání diplomové práce

Student: **Bc. Petr Zapletal**  
Studijní program: N2102 Nerostné suroviny  
Studijní obor: 3904T029 Minerální biotechnologie  
Téma: **Snížení obsahu těžkých kovů v kalech z ČOV**  
**Reduction of heavy metals content in sewage sludge**

Zásady pro vypracování:

1. Úvod
2. Charakteristika problematiky těžkých kovů v kalech z ČOV s ohledem na jejich další využití
3. Volba mikroorganismů a způsob jejich aplikace
4. Experimentální část
5. Zhodnocení výsledků
6. Závěr

Rozsah práce: 40 - 60 stran.

Seznam doporučené odborné literatury:

Pitter, P. Hydrochemie. Praha : VŠCHT. 2009.  
Bindzar, J. a kol. Základy úpravy a čištění vod. Praha : VŠCHT. 2009.  
Dohányos, M.; Koller, J.; Strnadová, N. Čištění odpadních vod. Praha : VŠCHT. 2007.  
Raclavská, H. Technologie zpracování a využití kalů z ČOV. Ostrava. 2007.  
Lyčková, B.; Fečko, P.; Kučerová, R. Zpracování kalů. Ostrava : VŠB-TUO. 2009.

Počet literárních citací: 40 (z toho 50 % zahraničních).

Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Dr. Ing. Radmila Kučerová**

Datum zadání: 31.10.2012

Datum odevzdání: 30.04.2013

prof. Ing. Vojtech Dirner, CSc.  
vedoucí institutu



prof. Ing. Vladimír Slivka, CSc., dr.h.c.  
děkan fakulty

## Prohlášení

- Celou diplomovou práci včetně příloh, jsem vypracoval samostatně a uvedl jsem všechny použité podklady a literaturu.
- Byl jsem seznámen s tím, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č.121/2000 Sb. - autorský zákon, zejména § 35 – využití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a využití díla školního a § 60 – školní dílo.
- Beru na vědomí, že Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen VŠB-TUO) má právo nevýdělečně, ke své vnitřní potřebě, diplomovou práci užít (§ 35 odst. 3).
- Souhlasím s tím, že jeden výtisk diplomové práce bude uložen v Ústřední knihovně VŠB-TUO k prezenčnímu nahlédnutí a jeden výtisk bude uložen u vedoucího diplomové práce. Souhlasím s tím, že údaje o diplomové práci, obsažené v Záznamu o závěrečné práci, umístěném v příloze mé diplomové práce, budou zveřejněny v informačním systému VŠB-TUO.
- Souhlasím s tím, že diplomová práce je licencována pod Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 Unported licencí. Pro zobrazení kopie této licence, je možno navštívit <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>
- Bylo sjednáno, že s VŠB-TUO, v případě zájmu o komerční využití z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona.
- Bylo sjednáno, že užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu komerčnímu využití mohu jen se souhlasem VŠB-TUO, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB-TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše).

V Ostravě dne 19. dubna 2013

.....  
Bc. Petr Zapletal  
Krátká 421  
Kralice na Hané

Děkuji Doc. Dr. Ing. Radmile Kučerové, za odborné vedení při vypracování diplomové práce a za poskytnutí odborných konzultací. Rovněž děkuji firmě Laboratoř MORAVA s. r. o. Studénka, za poskytnutí technického zázemí a materiálů. V neposlední řadě děkuji své rodině za podporu po celou dobu mého studia.

## **Anotace**

Kal z čistíren odpadních vod je směs látek, která vzniká v procesu čištění vody. Je to odpad, který je využitelný ke hnojení zemědělských půd a výrobě kompostů.

Z těchto důvodů je rozhodující jeho složení, zejména pak obsah těžkých kovů a dalších toxických látek. Proto je nutné neustále snižovat obsah těchto škodlivých látek a tím omezovat negativní vliv na životní prostředí.

V této práci jsem se pokusil o snížení množství těžkých kovů jako je, arsen, kadmium, chrom, měď, rtuť, molybden, nikl, olovo a zinek, v kalech z ČOV pomocí mikroorganismů *Escherichia coli* a *Pseudomonas putida*. Je prokazatelné, že tyto mikroorganismy mají vliv na snížení obsahu těžkých kovů v kalech z čistíren odpadních vod.

**Klíčová slova:** kaly z čistíren odpadních vod, těžké kovy, mikroorganismy, bioremediace

## **ABSTRACT**

Sludge from wastewater treatment plants are a mixture of substances formed in the water purification process. It's a waste that is usable for fertilization of agricultural soils and compost production. Important is the composition of the sludge, especially of heavy metals and other toxic substances. Therefore, it is necessary to continuously reduce the content of harmful substances and reduce the negative impact on the environment.

In this thesis I have tried to come up with the possibility to reduce the heavy metals like arsenic, cadmium, chromium, copper, mercury, molybdenum, nickel, lead and zinc in sludge from wastewater treatment plants using microorganisms *Escherichia coli* and *Pseudomonas putida*. These microorganisms have the effect of reducing the content of heavy metals in sludge from wastewater treatment plants.

**Keywords:** sludge from sewage treatment plants, heavy metals, microorganisms, bioremediation

## **OBSAH:**

<b>1. ÚVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. METODY PRÁCE A MATERIÁL .....</b>	<b>3</b>
<b>3. CHARAKTERISTIKA PROBLEMATIKY TĚŽKÝCH KOVŮ V KALECH Z ČOV S OHLEDEM NA JEJICH DALŠÍ VYUŽITÍ.....</b>	<b>4</b>
3.1. Charakteristika .....	4
3.2. Vznik kalů z ČOV .....	4
3.3. Využití kalů .....	7
3.3.1 Využití kalů v zemědělství.....	8
3.3.2 Skládkování .....	8
3.3.3 Spalování .....	8
3.3.4 Využití kalů v zemědělství.....	8
3.3.5 Využití kalů - výroba hnojiv .....	9
3.4 Škodlivé látky v kalech z ČOV .....	12
3.4.1 Těžké kovy.....	12
3.4.2 Polychlorované bifenyly (PCB).....	12
3.4.3 Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs).....	13
3.4.4 Adsorbovatelné organicky vázané halogeny (AOX) .....	13
3.5 Charakteristika těžkých kovů.....	14
3.5.1 Měď .....	15
3.5.2 Chrom .....	16
3.5.3 Nikl .....	16
3.5.4 Zinek .....	17
3.5.5 Kadmium .....	17
3.5.6 Rtuť .....	18
3.5.7 Arzen.....	19
3.5.8 Molybden .....	20
3.5.9 Olovo .....	21
3.6 Mikroorganismy a těžké kovy.....	21
<b>4. VOLBA MIKROORGANISMŮ A ZPŮSOB JEJICH APLIKACE .....</b>	<b>24</b>
<b>5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....</b>	<b>25</b>
5.1 Odběr kalů z ČOV .....	25
5.2 Očkování <i>Pseudomonas putida</i> .....	26



5.3 Očkování <i>Escherichia coli</i> .....	27
<b>6. VÝSLEDKY POKUSU .....</b>	<b>29</b>
6.1 Analýza kontrolního vzorku kalu 1A .....	29
6.2 Analýza vzorků kalu 2A, 2B a 2C.....	31
6.3 Analýza vzorků kalu 3A, 3B a 3C.....	31
<b>7. ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ.....</b>	<b>32</b>
7.1 Hodnocení testů s aplikací <i>Pseudomonas putida</i> 2A, 2B a 2C.....	32
7.2 Hodnocení pokusu s aplikací <i>Escherichia coli</i> 3A, 3B a 3C.....	33
7.3 Vzájemné porovnání pokusu při aplikaci <i>Escherichia coli</i> a <i>Pseudomonas putida</i> .....	34
<b>8. ZÁVĚR.....</b>	<b>38</b>
Seznam použité literatury a zdrojů .....	39
Seznam tabulek .....	43
Seznam obrázků.....	44
Seznam grafů.....	45

## **Seznam použitých zkratk**

% – procenta

AAS - Atomová absorpční spektrometrie

aj. – a jiné

AOX – absorbovatelné halogenované uhlovodíky

apod. – a podobně

atd. – a tak dále

ČOV – čistírna odpadních vod

ČR – Česká republika

*E. coli* – *Escherichia coli*

EU – European union, Evropská unie

IARC - The International Agency for Research on Cancer, Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny

IF – hodnota genotoxického potenciálu, indukční faktor

Mze – Ministerstvo zemědělství

MŽP – Ministerstvo životního prostředí

PAHs – polycyklické aromatické uhlovodíky

PCB – polychlorované bifenyly

PVC - polyvinylchlorid

r. – rok

resp. – respektive

Sb. – Sbírka zákonů

tab. – tabulka

TK – těžké kovy

ÚKZÚZ – Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský se sídlem v Brně

VV – vodný výluh

ŽP – životní prostředí

## 1. ÚVOD

V současné době je stále častěji řešena otázka velkého nárůstu těžkých kovů v životním prostředí. Ve vztahu k živému organismu vykazují ionty těžkých kovů inhibiční efekt. Jsou toxické již ve velmi nízkých dávkách, s dlouhým biologickým poločasem eliminace, z tohoto důvodu představují velký problém.

Studování vztahů mezi těžkými kovy a mikroorganismy nám může řešení této otázky bezpochyby usnadnit. Pro jednoduchost molekul toxických kovů a jejich snadné přijímání buňkou si mikroorganismy vytvořily řadu obranných mechanismů. Zejména je to aktivní transport kovu z buňky, precipitace a transformace kovu na méně toxické nebo netoxické formy a bioakumulace a biosorpce, spojené s vytvářením komplexních molekul vázajících ionty kovů. Některých těchto způsobů se úspěšně využívá v různých procesech bioremediace (Fečko, 2004).

Bioremediace je technologie odstraňování polutantů, která využívá biologického systému k úplnému rozkladu nebo transformaci různých nežádoucích chemických sloučenin na látky méně nebezpečné, v ideálním případě na CO<sub>2</sub> a vodu. Bioremediace lze využít pro čištění odpadních a podzemních vod, půdy, plynů a kalů. Obecné přístupy k procesu bioremediace jsou následující:

- monitorování přirozeného biodegradačního procesu,
- provádění modifikace prostředí, ve kterém k biologickému procesu dochází (přídavek nutrientů, aerace apod.),
- přídavek mikroorganismů.

Konečnými produkty efektivní bioremediace jsou látky netoxické, které již nejsou nebezpečím pro životní prostředí ani živé organismy. Bioremediace však není řešením pro všechny problémy našeho prostředí. Jako jiné technologie i bioremediace je limitována typem polutantů, které může odstraňovat, fyzikálně-chemickými podmínkami a časovými nároky. Pokud je však bioremediační zásah vyhodnocen jako vhodný, pak se jedná ve srovnání s fyzikálně-chemickými přístupy o metodu s nízkými náklady (Demain, 1999).

*Pseudomonas putida* je všudypřítomná gramnegativní bakterie s řadou zajímavých metabolických aktivit, zároveň se jedná o půdní saprofytické nepatogenní organismy. Pseudomonády tedy mají značný potenciál pro biotechnologické aplikace.

*Escherichia coli* (původním názvem *Bacterium coli*) je gramnegativní fakultativně anaerobní spory netvořící tyčinkovitá bakterie pohybující se pomocí bičíků. Spadá pod čeleď Enterobacteriaceae, jež také zahrnuje množství patogenních rodů mikroorganismů. *E. coli* patří ke střevní mikroflóře teplokrevných živočichů, včetně člověka. Z tohoto důvodu je její přítomnost v pitné vodě indikátorem fekálního znečištění. Člověku je, jako součást přirozené mikroflóry, prospěšná, jelikož produkuje řadu látek, které brání rozšíření patogenních bakterií (koliciny) a podílí se i na tvorbě některých vitamínů (např. vitamín K). Byla objevena německo-rakouským pediatrem a bakteriologem Theodorem Escherichem v roce 1885 (Petružela, 1989).

Ve své diplomové práci se zabývám hodnocením úspěšnosti aplikace mikroorganismů do kalů z ČOV a tím snížení obsahu těžkých kovů.

Hlavním důvodem, proč jsem si vybral toto téma, je zajímavost problematiky vývoje biotechnologií a jejich vazeb na životní prostředí.

V úvodní části práce se zabývám popisem problematiky vzniku kalů z ČOV, čištěním odpadních vod, dále popisem použitých mikroorganismů a technologie bioremediace.

V dalších oddílech popisuji pokus aplikace mikroorganismů, chemické analýzy a následně vyhodnocení tohoto pokusu.

Cílem této diplomové práce je ověřit schopnost použitých mikroorganismů snížit množství těžkých kovů v kalech z ČOV, a tím usnadnit jejich další využití.

## 2. METODY PRÁCE A MATERIÁL

Ke své diplomové práci jsem použil velké množství informací získaných z různých publikací, které se zabývají problematikou kalů z čistíren odpadních vod a obsahem těžkých kovů, např. časopisy Odpady, Vodní hospodářství, ale i jednotlivé články v různých periodikách. Dále jsem využil poznatky z různých odborných knih k problematice kalů z ČOV.

Tématikou těžkých kovů v kalech ČOV a možností jejich snižování se zabývám po dobu studia na vysoké škole a je to oblast, o kterou bych se chtěl zajímat i ve své další práci.

Průzkum probíhal od roku 2011, kdy jsem se začal touto tematikou hlouběji interesovat. Věnoval jsem se vývoji množství těžkých kovů v kalech ČOV a dále způsoby jejich zpracování. Toto mi bylo umožněno, jakožto součást plnění provozní praxe v kompostárně po celou dobu mého studia.

Podklady k jednotlivým pokusům mi byly poskytnuty firmou Spreso s. r. o. Kralice na Hané, pokusy byly prováděny ve firmě Laboratoř MORAVA s. r. o. Studénka, kaly jsem získal z ČOV Vyškov, provozovanou společností Vodovody a kanalizace Vyškov, a. s.. Bakteriologický materiál jsem obdržel České sbírky mikroorganismů Brno a ze Sběrky mikroorganismů Ústavu mikrobiologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. K pořízení fotografií byl použit fotografický přístroj NIKON D90.

### **3. CHARAKTERISTIKA PROBLEMATIKY TĚŽKÝCH KOVŮ V KALECH Z ČOV S OHLEDEM NA JEJICH DALŠÍ VYUŽITÍ**

#### **3.1. Charakteristika**

Kal je jedním z produktů, které vznikají při procesu čištění odpadních vod. Další nakládání s kalem je ovlivněno tím, jestli ho využijeme jako surovinu k výrobě hnojiv, přímému hnojení, nebo ho budeme považovat za odpad.

Čistírenské kaly mají vysoký obsah organických látek, živin a stopových prvků. Z tohoto důvodu je vhodná aplikace na zemědělskou půdu a využití při výrobě hnojiv. Kaly současně obsahují velké množství těžkých kovů, polychlorovaných bifenyly (PCB), polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH), halogenovaných látek a dalších polutantů. Zdravotním rizikem jsou i patogenní mikroorganismy obsažené v kalech. (Šťasta et al., 2003).

Podmínky pro aplikaci upravených kalů na zemědělské půdě jsou stanoveny vyhláškou MŽP č. 382/2001 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě. Kaly podle této vyhlášky musí být pravidelně sledovány chemickými rozbory. Legislativa řeší kaly z čistíren odpadních vod (ČOV) zákonem č. 185/2001 Sb., o odpadech. Kaly musí být do 48 hodin po aplikaci na zemědělskou půdu zapraveny do půdy, musí minimálně dvakrát za rok projít testováním na obsah těžkých kovů a alespoň před první aplikací na zemědělskou půdu projít testováním na obsah PCB a AOX. Monitoring obsahu rizikových látek v kalech z čistíren odpadních vod každoročně provádí ÚKZÚZ v Brně.

Využití kalů z ČOV na výrobu hnojiv vymezují Zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a vyhláška Ministerstva zemědělství č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva

#### **3.2. Vznik kalů z ČOV**

Kal z ČOV vzniká při čištění odpadních vod. Upravený kal je ten, který prošel biologickou, chemickou nebo tepelnou úpravou, dlouhodobým skladováním nebo jakýmkoliv jiným vhodným procesem, který v něm významně sníží obsah škodlivých látek a patogenních organismů. Podle zákona č. 185/2001 Sb., o odpadech, patří kaly z čistíren

odpadních vod mezi tzv. vybrané odpady. Zákon určuje, jaké podmínky musí kal splňovat a kdy je jeho použití na zemědělskou půdu zakázáno (Zákon 185/2001Sb., o odpadech).

Čištěním odpadních vod se odstraňují pevné částice, snižuje se obsah organické hmoty, koncentrace dusíku a fosforu a počet patogenních mikroorganismů. Je to vícestupňový proces. Výsledným produktem je voda, která nesmí vykazovat vlastnosti, které by mohly vést k ohrožení nebo zhoršení stavu vodního prostředí. Vedlejším produktem při čištění odpadních vod se stává čistírenský kal (Bindzar, 2009).

Při primární fázi čištění se separují velké pevné částice. Odpadní voda protéká přes česle, kde se zachytí plovoucí předměty. Další větší částice se usazují v lapáku šterku a písku. Jako další následuje primární usazovací nádrž, kde se suspendované usaditelné částice usadí na dno jako primární kal. Mikrobiální patogeny nejsou během primárních úprav efektivně odstraněny, pouze jejich část se adsorbuje na pevné částice (Bindzar, 2009).

V průběhu sekundární fáze dochází k biologickému odstranění rozpuštěné organické hmoty a snížení obsahu bakteriálních patogenů. Mechanicky vyčištěná voda je čerpána do aktivační nádrže, kde se smíchá s aktivovaným kalem. V nádrži jsou provzdušňováním dodržovány aerobní podmínky rozkladu organického materiálu. Následuje dosazovací nádrž, kde se separují vyčištěné vody od aktivovaného kalu. Část kalu jde zpět do aktivační nádrže. Přebytkový aktivovaný kal, nazývaný sekundární kal, je jako odpad odebrán. Součástí aktivačního procesu může být biologické odstraňování dusíku (zóny nitrifikace – denitrifikace aktivační nádrže) a fosforu (Bindzar, 2009).

Dalším krokem je stabilizace organické hmoty, snížení obsahu vody a snížení počtu mikroorganismů v kalu. Primární kal obsahuje 2 - 3 % sušiny, sekundární kal 0,5 - 1 % sušiny. Během stabilizace organické hmoty dochází k poklesu počtu patogenů a také omezení zápachu. Snížení obsahu vody vede k celkovému snížení hmotnosti kalu, což usnadňuje a zlevňuje jeho transport (Zábranská, 2004).

Nejprve je kal zahuštěn sedimentací nebo centrifugací. Pak je organická hmota v kalu stabilizována za anaerobních nebo aerobních podmínek. Během tohoto procesu dochází k rozkladu organického materiálu a částečné destrukci patogenů (díky vyšší teplotě). Anaerobní rozklad (metanizace, vyhnívání) je častější a probíhá 3 - 4 týdny ve velkých uzavřených nádržích. Metanizace kalu je výhodná pro vedlejší produkci metanu, který se

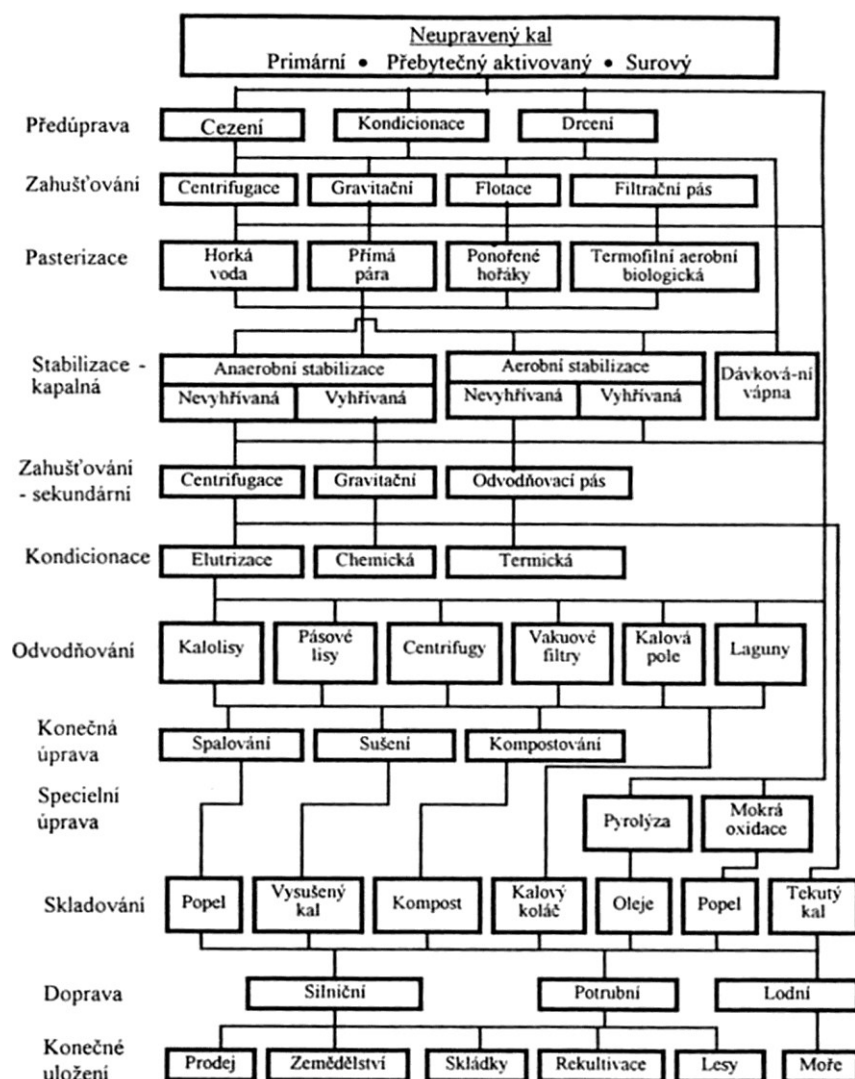
může využít jako zdroj energie. Aerobní stabilizace probíhá v otevřené nádrži, do které je přiváděn vzduch (Lyčková, Fečko, Kučerová, 2009).

Podle způsobu dalšího využití kalu je nutno na určitou hodnotu snížit přítomnost patogenních organismů. Přestože nejsou různá stadia čištění vod na ČOV přímo zaměřena na hygienizaci, většina patogenů je zničena. Jedná se zejména o procesy s vyšší teplotou či pH (anaerobní stabilizace, aerobní stabilizace, aerobní termofilní stabilizace, chemická stabilizace, odvodňování na kalových polích, termické sušení, kompostování a spalování). Dále mohou být použity metody zaměřené pouze na hygienizaci – použití oxidačních činidel, radiace, použití ultrazvuku, pasterizace, mechanická destrukce buněk mikroorganismů (Jeníček, 2000).

Volba metody hygienizace kalu závisí na technologii stabilizace kalů a na velikosti čistírny odpadních vod (Zábranská, 2004).

Dalším stupněm je odvodnění kalů. To probíhá v různých formách, odstáním na kalových polích, v kalolisech, na sítopásových lisech nebo v odstředivkách (Pitter, 2009).





Obrázek 1 Přehled metod úpravy a zpracování kalů (Frank, 1996)

### 3.3. Využití kalů

V ČR se produkované kaly přímo aplikují na zemědělskou půdu, používají se k výrobě kompostů, k rekultivacím a část se skládkuje. Spalování kalů v ČR se příliš pro svou ekonomickou náročnost neuplatňuje. V EU je 34 % produkovaných kalů využíváno v zemědělství, 32% kalů je ukládáno na skládky, 4 % z produkce kalů se vypouští do moře, 11 % kalů se spaluje a zbylých 19 % z produkovaných kalů je likvidováno jiným způsobem (Hartig, 2003).

### 3.3.1 Využití kalů v zemědělství

Stabilizované odvodněné čistírenské kaly představují díky svému bohatému obsahu organických látek, živin a biologicky aktivních látek významný doplňkový zdroj chybějící organické hmoty a stopových prvků nezbytných pro zdárný vývin a růst rostlin (Frank, 1996).

### 3.3.2 Skládkování

Legislativa platná v zemích EU přímo zakazuje skládkování neupravených kalů (kaly bez fyzikální a chemické stabilizace) a také striktně omezuje skládkování biologicky rozložitelných odpadů (Šťasta et al., 2003).

### 3.3.3 Spalování

Kaly z čistíren odpadních vod lze spalovat v různých spalovacích zařízeních (spalovny tuhých komunálních odpadů, teplárny a elektrárny, cementárny, speciální spalovny odvodněného kalu), (Šťasta et al., 2003).

### 3.3.4 Využití kalů v zemědělství

Nízký obsah organické hmoty negativně ovlivňuje kvalitu zemědělských půd. Obsah organické hmoty pozitivně ovlivňuje půdní strukturu, úrodnost půdy a její schopnost zadržovat vodu a zabraňuje erozi a vymývání. Díky sorpčním a pufracním schopnostem přispívá půdní organická hmota také k regulování šíření znečišťujících látek z půdy do vody. Z tohoto důvodu je použití kalů z ČOV jednou z možností, jak obsah organické hmoty v půdě zvýšit.

Půda je nedílnou součástí ekosystémů, koloběhu látek i toku energií. Poskytuje životně důležité podmínky pro mikroorganismy, rostliny, půdní živočichy a je nezbytná pro život člověka. Půdní organismy plní především dekompoziční roli v potravních a biochemických cyklech, při tvorbě humusu a půdní struktury, ale i při dekompozici rizikových látek. Má retenční funkci, tj. schopnost adsorbovat polutanty, které se nepřemísťují mobilní vodní cestou, a tím pádem nepronikají do potravních řetězců.

Podle zákona č. 185/2001Sb., o odpadech patří kaly z čistíren odpadních vod mezi tzv. vybrané odpady. Zákon určuje, jaké podmínky musí kal splňovat a kdy je jeho použití

na zemědělskou půdu zakázáno. Použití kalů je dle tohoto zákona zakázáno na zemědělské půdě, která je součástí chráněných území přírody a krajiny, na půdách lesních porostů využívaných ke klasické lesní pěstební činnosti, v pásmu ochrany vodních zdrojů, na zamokřených a zaplavovaných půdách, na trvalých travních porostech, v intenzivních plodících ovocných výsadbách, na pozemcích využívaných k pěstování polních zelenin v roce jejich pěstování a v roce předcházejícím, v průběhu vegetace při pěstování píce a kukuřice, na plochách, které jsou využívány k rekreaci a sportu, a veřejně přístupných prostranstvích, nebo jestliže kaly nesplňují mikrobiologická kritéria (zákon 185/2001Sb., o odpadech).

Vyhláška č. 382/2001 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě, určuje limity rizikových látek v půdě, mezní množství těžkých kovů, které může být aplikováno, mezní koncentrace vybraných rizikových látek v kalech a také mikrobiologické parametry. Dále stanovuje povinné odběry a analýzy vzorků půdy i vzorků kalů, které zajišťuje původce kalů.

Směrnice Rady 86/278/EEC ze dne 12. června 1986 o ochraně životního prostředí a zejména půdy při používání čistírenských kalů v zemědělství je nastavená stejně jako česká legislativa v této oblasti, diferencuje se maximálními hodnotami kontaminantů. Záměr směrnice vychází z regulace používání splaškových kalů v zemědělství způsobem, kterým nebude docházet k poškozování půdy, rostlin, života živočichů a člověka a zhoršování kvality vod. Následující plán směrnice je, podpořit správné používání kalů z čistíren odpadních vod, protože kal může být využitý v zemědělství jako cenná surovina. (Raclavská, 2007).

### 3.3.5 Využití kalů - výroba hnojiv

Kaly z ČOV se na zemědělskou půdu dostanou také použitím hnojiv, při jejichž výrobě byly využity.

Pravidla pro aplikaci hnojiva vymezuje zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech. Zákon č. 9/2009 Sb., kterým se mění předchozí zákon. Následuje Vyhláška Ministerstva zemědělství č.474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva, která stanovuje limitní hodnoty rizikových látek v hnojivech, a Česká státní norma 46 5735, která předepisuje kritéria pro průmyslové komposty, viz tabulka č. 1, 2 a 3 (Zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech,

pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd; Vyhláška č. 474/2000 Sb., Vyhláška Ministerstva zemědělství o stanovení požadavků na hnojiva; ČSN 46 5735, 1991).

Podle zákona č.156/1998 Sb. o hnojivech, mohou do oběhu prodejem výrobci a dodavatelé uvádět pouze hnojiva, která jsou dle něho zaregistrovaná. Registraci hnojiva provádí Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský na žádost výrobce. Žadatel musí k žádosti poskytnout vzorky hnojiva, nebo umožnit jejich odběr. Jeho povinností je uhradit správní poplatek a náklady na rozборы vzorků (Zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd). (Dohanyos, 2006).

Tabulka 1: Nejvyšší přípustná množství sledovaných látek v kompostu (ČSN 465735)

Sledované látky	Nejvyšší přípustné množství sledované látky v mg v 1 kg vysušeného vzorku kompostu podle třídy	
	I.	II.
As	10	20
Cd	2	4
Cr	100	300
Cu	100	400
Hg	1	1,5
Mo	5	20
Ni	50	70
Pb	100	300
Zn	300	600

Tabulka 2: Nejvyšší přípustná množství sledovaných látek v surovině pro výrobu kompostu (ČSN 465735)

Sledované látky	Nejvyšší přípustné množství sledované látky v mg v 1 kg vysušeného vzorku suroviny
As	50
Cd	13
Cr	1000
Cu	1200
Hg	10
Mo	25
Ni	200
Pb	500
Zn	3000

Tabulka 3: Nejvyšší přípustná množství sledovaných látek v kalech pro jejich použití na zemědělské půdě

Riziková látka	Maximální hodnoty koncentrací v kalech ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny)
As	30
Cd	5
Cr	200
Cu	500
Hg	4
Ni	100
Pb	200
Zn	2500
AOX	500
PCB ( $\Sigma 6$ kongenerů)	0,6

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský se sídlem v Brně realizuje v souvislosti s programem monitoringu půd a atmosférické depozice také vyhodnocování látek a vstupů rizikových látek do půdy prostřednictvím aplikace kalů. Každý rokem je sledováno asi 200 ČOV na území celé ČR. Z každé ČOV je během roku odebráno několik vzorků kalů, u kterých se analyzují rizikové prvky. Sleduje se obsah olova, kadmia, chromu, rtuti, niklu, mědi, molybdenu a arzenu. Kontrola se zaměřuje na ty ČOV, které aplikují část produkce kalů v konečné fázi na zemědělskou půdu. U vybraných čistíren, které mají velkou produkci, je stanovován i obsah živin, pH, objem organické hmoty, obsah PCB, PAH a AOX (ÚKZÚZ, 2011).

O výsledku kontrol jsou informováni ve výroční zprávě. Výsledky z kontroly za rok 2011 jsou popsány níže. Analyzováno bylo 90 vzorků z ČOV. Vyhlášce č. 382/2001 Sb. nevyhovělo 20 % vzorků. Nejčastější překročení mezní hodnoty koncentrací v kalech měly Pb, Ni, Hg. Největší podíl ČOV produkujících kaly s nadlimitním obsahem alespoň 1 prvku v roce 2011 měl Liberecký kraj. U Cd, Zn, Pb, Hg je celkově klesající trend obsahů v kalech. (ÚKZÚZ, 2011).

### 3.4 Škodlivé látky v kalech z ČOV

#### 3.4.1 Těžké kovy

Většina těžkých kovů (Cu, Mo, Ni, Zn) je esenciální, ale při určité koncentraci jsou všechny toxické. Hlavní nebezpečí spočívá ve změně oxidačního stavu, v základu jsou nedegradabilní. Mají dispoziční k bioakumulaci v potravních řetězcích. Poškozuji DNA (As, Cr VI<sup>+</sup>), vyvolávají denaturaci proteinů, oxidativní stres, pozorovány byly i imunotoxické a genotoxické účinky. As, Cr(VI<sup>+</sup>), Ni patří mezi karcinogenní látky, Cd mezi pravděpodobné karcinogeny a Pb mezi potenciální karcinogenní látky (Recetox, 2005).

#### 3.4.2 Polychlorované bifenyly (PCB)

PCB jsou vysoce perzistentní, bioakumulativní látky. Jsou toxické a vyvolávají změny v metabolismu. PCB patří mezi uměle vyráběné sloučeniny, jsou to většinou bezbarvé oleje, teplotně odolné a nehořlavé. Nacházejí se také ve směsích s různou strukturou. V průmyslu se používají hlavně jako elektrické izolační kapaliny do kondenzátorů a transformátorů, jako teplotně odolné médium, složka do barev, bezkarbonový

kopírovací papír a prostředek na zhášení do umělých hmot. Přírodní zdroj PCB neexistuje. V ŽP se zdržují dlouho a jsou klasifikovány jako persistentní organické polutanty (POPs). Hromadí se v potravinovém řetězci. PCB řadíme do skupiny těkavých organických látek (VOC). Zdroji emisí do prostředí byly hlavně úniky ze zařízení obsahující PCB, likvidace zařízení s obsahem PCB, emise z průmyslových procesů, jako jsou elektrárny, železárny a ocelárny a také aplikace kalů z ČOV na zemědělskou půdu. PCB jsou toxické pro vodní organizmy. Nadměrné působení PCB na člověka může ohrozit imunitní systém, mozek, oči, srdce, ledviny, játra, rozmnožovací orgány, pokožku, štítnou žlázu, může být karcinogen (www.irz.cz).

### 3.4.3 Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs)

Vznikají jako vedlejší produkty spalovacích procesů. Čisté sloučeniny jsou bílé nebo nažloutlé krystalické pevné látky. Nejsou rozpustné ve vodě, ale snadno rozpustné v tucích a olejích. PAHs se vyskytují v rozsáhlé řadě produktů, jako jsou výrobky z černouhelného dehtu, motorová nafta, asfalt při pokrývání střech a stavbě silnic. Únik do ŽP je spojen s lidskou činností i přírodním zdrojem (např. lesní požáry). Zdrojem v průmyslu je výroba hliníku a koksovy. Schopnost PAHs, transportovat se na dlouhé vzdálenosti atmosférou a tím ohrožovat člověka a volně žijící živočichy i ve vzdálených oblastech od emisního zdroje, vedly k zařazení PAHs do kategorie perzistentních organických polutantů – POPs (Persistent Organic Pollutants). Nebezpečnost PAHs se zakládá na jejich bioakumulaci a biokoncentraci v potravním řetězci, od primárních producentů až po terciární konzumenty. Řada PAHs patří mezi potenciální karcinogenní a mutagenní látky, většina z nich má toxické nebo imunotoxické vlastnosti. Během biologického stupně čištění vod jsou z vodní fáze adsorbovány na suspendované pevné částice a následně akumulovány v čistírenských kalech. PAHs s menším počtem jader jsou degradovány.

### 3.4.4 Adsorbovatelné organicky vázané halogeny (AOX)

AOX jsou genotoxické, karcinogenní a mají schopnost denaturovat proteiny (Recetox, 2005). Některé chlorované chemikálie určené jako AOX jsou toxické pro vodní organizmy i při nízkých koncentracích. Některé jsou stabilní a mají tendenci se akumulovat v organismech. Pro obsah AOX stanovuje limit i vyhláška č. 382/2001 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě. AOX obsahuje četnou skupinu látek, které

mohou být adsorbovány z vody do aktivního uhlí. Mohou to být jednoduché těkavé látky jako je např. trichlormethan (chloroform) nebo o komplexní organické molekuly jako jsou dioxiny/furany s různými toxickými vlastnostmi. Jsou i AOX, jež řadíme do skupiny těkavých organických látek (VOC). Hlavní zdroj AOX je papírenský průmysl. Méně podstatné množství AOX vzniká i během chlorování vody. Dalším hlavním původcem úniků AOX jsou průmyslové odpadní vody z výroby, ve kterých se vyrábějí nebo používají látky s obsahem chloru ([www.irz.cz](http://www.irz.cz)).

### 3.5 Charakteristika těžkých kovů

Těžké kovy se vyznačují hustotou vyšší než  $5 \text{ g/cm}^3$ . Z 90 prvků, které se vyskytují v přírodě, je 21 nekovů, 16 lehkých kovů a zbývajících 53 (včetně arzenu) jsou kovy těžké. Většina patří do skupiny přechodných prvků s neúplně obsazenými *d*-orbitály. Tato skutečnost jim dává možnost tvořit komplexní sloučeniny (vystupují jako centrální iont), které mohou mít redoxní aktivitu (Nies, 1999). Pouze Zn, Cd, Hg mají plně obsazené *d*-orbitály, které se málo podílejí na kovové vazbě a navíc se tato skutečnost odráží i ve fyzikálně-chemických vlastnostech výše zmíněných prvků – mají nízkou teplotu tání.

Ionty těžkých kovů hrají důležitou roli jako esenciální prvky, avšak ve vyšších koncentracích jsou toxické – dochází k tvorbě nespecifických komplexních sloučenin v buněčné stěně. Příkladem silně toxických komplexů pro fyziologické funkce organismů jsou komplexy vzniklé díky iontům  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Ag}^{2+}$ , které nejsou součástí žádné biologicky aktivní látky. Intracelulární koncentrace kovových iontů v buňkách organismů musí být přísně kontrolována a přítomnost systému rezistence proti nim je jedním ze základních požadavků živých organismů pro udržení homeostázy. Ionty těžkých kovů ovlivňují nejen růst mikroorganismů, ale také jejich morfologii či biochemickou aktivitu.

Znečištění životního prostředí ionty těžkých kovů je většinou důsledek antropogenní činnosti – probíhá s rozvojem průmyslu a intenzifikací zemědělství. Převážně jejich činností se do ŽP dostávají nežádoucí vysoké koncentrace těžkých kovů. Přírodní zdroj těžkých kovů v prostředí je zvětrávání mateřské horniny a rud a vulkanická činnost.

K hlavním anorganickým polutantům v ŽP se řadí olovo, chróm, rtuť, uran, selen, zinek, arzen, kadmium, zlato, stříbro, měď a nikl. Ty se dostávají do prostředí při těžbě rud, zpracování rud, dále při likvidaci kalů nebo jako popílek ze spaloven. Dalšími zdroji



znečištění prostředí těžkými kovy mohou být výroba a požívání barev, slitin, baterií, pesticidů, konzervantů či spalování černého uhlí.

Největší podíl na kontaminaci ŽP mají zinek, olovo, chróm a rtuť, především proto, že se využívají ve strojírenství, papírnictví, kožedělném, chemickém a petrochemickém průmyslu. Hlavním zdrojem kontaminace prostředí zinkem a chrómem je výroba hnojiv a kožedělný průmysl.

Ionty těžkých kovů se usazují v půdě, pak přecházejí do prokaryotních i eukaryotních organismů a zčásti se v nich akumulují. Mohou se také vyplavovat a následně usazovat v říčních a mořských sedimentech, přecházejí do živých organismů. Akumulace těžkých kovů v půdě je podmíněna hodnotou pH. Při okyselení půdy, se ionty těžkých kovů uvolňují a snadněji přecházejí do organismů i prosakují do podzemních vod (Fečko, 2004).

### 3.5.1 Měď

Měď je kovový prvek červenohnědé barvy, má velmi dobrou tažnost, kujnost a vodivost. Největší množství sloučenin tvoří v oxidačním stavu  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Cu}^+$ , menší pak v oxidačním stupni  $\text{Cu}^{3+}$  a  $\text{Cu}^{4+}$ . Měď je na vzduchu nestálá, působením atmosférické vlhkosti a oxidu uhličitého, se pokrývá tenkou vrstvou měďenky (uhličitanu měďnatého). Zastoupení tohoto prvku je v zemské kůře poměrně malé, cca 60 mg/kg, v mořské vodě pouze 0,003 mg/l. Nejvýznamnější naleziště měděných rud se nachází v Severní Americe, Africe a na území Asie. K průmyslové výrobě se využívají sulfidické rudy, ve kterých se obsah mědi pohybuje kolem 1%, drtí se a koncentruje, pak je konečný obsah mědi 15 – 20% (Bitton, 1992).

Čistá měď se nejčastěji používá na výrobu střešní krytiny, okapů, trubíc, elektrických vodičů, chladičů, kuchyňského nádobí. Slitina mědi, hliníku a zinku, bronz, se používá pro výrobu předmětů s vysokou odolností, jako jsou čerpadla, kuličková ložiska, aj. Dalšími významnými slitinami jsou mosaz, Molenova slitina (Ni – Cd), dále pak dentální a mincovní slitiny.

Enzymy, obsahující tento prvek, ovlivňují metabolismus sacharidů vyšších organismů, vytváření kostní hmoty či správné fungování nervového systému. Měď je nedílnou součástí hemocyaninu, nosiče kyslíku u měkkýšů a některých členovců. U rostlin

je součástí plastocyaninu, který funguje při přenosu elektronů, peroxidázy a oxidázy (Geenwood a Earnshaw, 1993).

### 3.5.2 Chrom

Je bílý, lesklý, křehký a neobyčejně tvrdý prvek. Je nejtvrdší ze všech kovů, podle Mohsovy stupnice dosahuje jeho tvrdost hodnoty 8,5. Při normální teplotě je velmi chemicky odolný a stálý. Při vyšších teplotách přímo reaguje s halogeny, sírou, borem, křemíkem, uhlíkem i některými kovy. Je nerozpustný v koncentrovaných kyselinách ani v lučavce královské. Tato rezistence je způsobena pasivací vrstvou oxidu  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  na povrchu kovu.

V přírodě se chrom vyskytuje nejčastěji v rudách chromit  $\text{FeO} \cdot \text{Cr}_2\text{O}_3$  a krokoit  $\text{PbCrO}_4$ . Občas se nalézá jako ryzí kov, z minerálů má nejvyšší obsah chromu (87,47 % Cr) vzácný minerál ferchromid  $\text{Cr}_3\text{Fe}_{0,4}$ .

Pro technické účely se chrom vyrábí jako ferochrom redukcí chromitu uhlíkem v elektrické nebo Martinské peci. Výroba čistého chromu se provádí z  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  aluminotermicky, redukcí  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  křemíkem nebo vápníkem, redukcí  $\text{CrCl}_3$  vápníkem v tavenině  $\text{BaCl}_2$  nebo elektrolýzou kyseliny chromové  $\text{H}_2\text{CrO}_4$ .

Rozpustné sloučeniny šestimocného chromu patří mezi významně toxické látky a jsou zařazeny mezi karcinogeny. Dichromany jsou podle zákona v ČR klasifikovány jako vysoce toxické (Geenwood a Earnshaw, 1993).

### 3.5.3 Nikl

Nikl je bílý, feromagnetický kov, který je dobře kujný, tažný a vodivý. Ve sloučeninách se vyskytuje nejčastěji ve formě  $\text{Ni}^{2+}$ . Ve formě  $\text{Ni}^{3+}$  je výrazně nestabilní. Nikl je v přírodě dobře zastoupen, v zemské kůře je to v průměru 100 mg/kg, v mořské vodě 5,4  $\mu\text{g/l}$ . V přírodě se nachází jak „ryzí“, tak i v podobě rud, z nichž největší průmyslový význam mají laterity a sulfidy.

Využívá se k pokovování méně odolných kovů a také na výrobu chemického nádobí nebo jako mincovní kov. Podstatné je použití při výrobě nikl-hydridových baterií či nikl-kadmiových galvanických elektrických článků (Geenwood a Earnshaw, 1993).

Nikl má rovněž biologický význam – je součástí enzymů (dnes jich je známo 9) bakterií, hub, řas, vyšších rostlin i živočichů.

### 3.5.4 Zinek

Zinek je modrobílý, měkký, lehce tavitelný kov. Ve sloučeninách se vyskytuje pouze ve formě  $\text{Zn}^{2+}$ . Díky plně zaplněnému orbitalu je kationt zinku neschopen tvorby komplexních sloučenin (Nies, 1999). V zemské kůře je tento prvek poměrně hojně zastoupen - průměrný obsah činí kolem 100 mg/kg. V mořské vodě je jeho koncentrace také značně vysoká – 0,01 mg/l. Velká naleziště zinkových rud, především sfaleritu a smithsonitu, se nachází v Kanadě, USA a Austrálii. V průmyslu se využívají sulfidické rudy zinku.

Využívá se jako antikorozi ochranný materiál především pro železo a jeho slitiny, motorové karburátory, nádoby, vany, klempířské výrobky, aj. Je také využíván na výrobu galvanických článků. Nejvýznamnější je slitina s mědí, bílá a červená mosaz. Sloučeniny se využívají jako přísada do nátěrových hmot, zinková běloba nebo zinkové blejno (Geenwood a Earnshaw, 1993).

Zinek patří k prvkům s výraznou biologickou aktivitou. Je nezbytný pro tvorbu mnoha enzymů a DNA. U vyšších organismů, včetně člověka, je nutný pro správný vývoj pohlavních orgánů a růst.

### 3.5.5 Kadmium

Kadmium je měkký, lehce tavitelný kov. V zemské kůře se tento prvek vyskytuje jen vzácně – průměrný obsah je 0,1 – 0,5 mg/kg. V mořské vodě je jeho koncentrace značně nízká – 0,11  $\mu\text{g/l}$ . V přírodě se kadmium vyskytuje jako CdS, zdrojem jsou zinkové rudy s obsahem kadmia 0,2 – 0,4%.

Kadmium se používá jako antikorozi ochrana železa a jeho slitin, při výrobě pájek, galvanických elektrických článků typu Cd-Ni a jako stabilizátor k ochraně PVC před ultrafialovým a tepelným zářením (Geenwood a Earnshaw, 1993).

Kadmium, díky podobným vlastnostem se zinkem, snadno vstupuje do nejružnějších enzymatických reakcí místo zinku, a tím negativně ovlivňuje následné biochemické pochody. Kadmium poškozuje buňky především vazbou do aktivních míst

enzymů dýchacího řetězce místo esenciálních kovů nebo inhibuje opravu DNA. Po kontaminaci organismu se jen velmi pozvolna vylučuje. Byla prokázána i jeho karcinogenita.

### 3.5.6 Rtuť

Je to stříbrobílý, velmi lesklý, za normální teploty kapalný kov, v tuhém stavu krystalizuje v trigonální nebo hexagonální soustavě. Za normální teploty dobře reaguje se sírou, chlorem, s řadou kovů (sodík, draslík, měď, zinek, stříbro, kadmium, cín, zlato, olovo) tvoří slitiny - amalgámy. Dobře se rozpouští ve zředěné kyselině dusičné za vzniku dusičnanu rtuťného, s koncentrovanou kyselinou reaguje za vzniku dusičnanu rtuťnatého. Na suchém vzduchu je rtuť stálá, vlivem vlhkosti se rychle oxiduje na  $\text{HgO}$ . Páry rtuti jsou i v malých dávkách prudce jedovaté. Rtuť je doposud jediným známým prvkem, který tvoří sloučeniny helia - helidy. Ve sloučeninách vystupuje rtuť formálně pouze jako dvojmocná. V některých sloučeninách jsou však dva atomy rtuti vzájemně vázány, takové sloučeniny se navenek elektrochemicky jeví jako sloučeniny jednomocné rtuti. Elektrochemicky jednomocná rtuť obvykle tvoří málo rozpustné sloučeniny a má malý sklon k tvorbě komplexních sloučenin. Dvojmocná rtuť naopak tvoří sloučeniny většinou dobře rozpustné a má silný sklon k tvorbě komplexních sloučenin.

V přírodě se rtuť vyskytuje např. v minerálech cinabarit (rumělka)  $\text{HgS}$ , livingstonit  $\text{HgSb}_4\text{S}_8$ , laffittit  $\text{AgHgAsS}_3$ , coloradoit  $\text{HgTe}$ , montroydit  $\text{HgO}$ , tiemanit  $\text{HgSe}$ , grumiplucit  $\text{HgBi}_2\text{S}_4$ . Vzácně se nalézá rtuť ryzí (jako sekundární produkt oxidace v ložiscích cinabaritu), z minerálů má nejvyšší obsah rtuti (92,75 % Hg) vzácný nerost hanawaltit  $\text{Hg}_7[\text{Cl},(\text{OH})]_2\text{O}_3$ . Celkem je známo přibližně 95 nerostů s obsahem rtuti.

Výroba rtuti se v minulosti nejčastěji prováděla oxidačním pražením cinabaritu v různých typech šachtových, stříškových nebo rotačních pecí, kdy při teplotách nad  $450^\circ\text{C}$  dochází k tepelnému rozkladu  $\text{HgS}$  na rtuť a  $\text{SO}_2$  s následnou kondenzací kovové rtuti. V současnosti jsou tyto pece nahrazovány fluidními pecemi.

Kovová rtuť se používá jako náplň do řady měřicích a laboratorních přístrojů a pro výrobu výbojek a spínačů. Technicky významné je využití rtuti ve formě amalgámů. Rtuť se používá jako katoda v řadě elektrolytických výrob, např. výroba hydroxidu sodného z roztoku  $\text{NaCl}$ .

Sloučeniny rtuti nacházejí značné využití ve farmácii a jako laboratorní činidla v řadě analytických metod. Rtuťnatá sůl kyseliny fulminové, fulminát rtuťnatý  $\text{Hg}(\text{CNO})_2$ , má silně explozivní vlastnosti a používá se k výrobě rozbušek.

Červená rtuť je tajemný, přímo mystický materiál. Červená rtuť byla údajně vyrobena v období studené války v tehdejším SSSR. Mělo by se jednat o složitou komplexní sloučeninu různých izotopů rtuti a antimonu. Unikátní vlastností červené rtuti má být schopnost se energeticky „nabíjet“, např. pomocí rentgenového záření. Skutečná existence červené rtuti nebyla nikdy hodnověrně potvrzena.

Velkou hrozbou pro vodní prostředí se stává mikrobiální metylace  $\text{Hg}^0$  na metylртуť, která je několikanásobně toxičtější než kovová rtuť. Metylртуť se akumuluje v mase ryb, tím se dostává do potravinového řetězce a ohrožuje zdraví člověka. Nemoc způsobená metylrtutí byla označena podle primárního výskytu – Minamota, Japonsko, jako Minamotská nemoc (Greenwood a Earnshaw, 1993).

### 3.5.7 Arzen

Arzen je polokovový šedý  $\alpha$ -As, amorfni černý nebo hnědý  $\beta$ -As a krystalický, žlutý, měkký  $\gamma$ -As. Nejrozšířenější je šedý arzen. Arzen přímo reaguje s chlorem a řadou dalších prvků.

V přírodě se arzen vyskytuje ryzí a ve velkém množství minerálů, např. auripigment  $\text{As}_2\text{S}_3$ , realgar  $\text{As}_4\text{S}_4$ , oregonit  $\text{Ni}_2\text{FeAs}_2$  a řadě dalších. Nejvyšší obsah arzenu (90,33 % As) má duranusit  $\text{As}_4\text{S}$ . Arzen se nachází i v některých druzích severočeského hnědého uhlí, v množství až 1290 mg na 1 kg.

Výroba arzenu probíhá tepelným rozkladem arzenopyritu nebo lollingitu při teplotě 700-800°C bez přístupu vzduchu. V současné době je největším zdrojem arzenu oxid arzenitý  $\text{As}_2\text{O}_3$ , který je součástí odpadních produktů při rafinaci kobaltu. Kovový arzen se z  $\text{As}_2\text{O}_3$  získává redukcí oxidem uhelnatým nebo uhlíkem. Redukce oxidu arzenitého probíhá při teplotě 900°C. Dalším významným zdrojem arzenu je arzeničnan sodný  $\text{Na}_3\text{AsO}_4$ , který vzniká jako odpadní produkt rafinace olova harisováním.

Volný arzen má pouze omezený praktický význam, nejčastěji se používá jako součást speciálních slitin a pro výrobu polovodičů. Sloučeniny arzenu se používají v

lékařství a při výrobě organických barviv. Nerozpustný sulfid arzenitý  $\text{As}_2\text{S}_3$  je znám jako barvivo královská žlut' a využívá se v koželužství jako odchlupovací činidlo. Arzenitan sodný  $\text{Na}_3\text{AsO}_3$  se používá jako fungicidní prostředek, arzeničnan olovnatý  $\text{Pb}_3(\text{AsO}_4)_2$  slouží jako insekticid.

Elementární arzen není příliš toxický, ale v organismu je metabolizován na toxické látky, zejména na oxid arzenitý  $\text{As}_2\text{O}_3$ , který je pod názvem arzenik znám jako účinný jed. Smrtelná dávka arzeniku pro člověka je 0,2 g. Všechny rozpustné sloučeniny arzenu jsou prudce jedovaté, některé se používají k hubení škůdců. Mezi nejedovatější patří chlorid arzenitý  $\text{AsCl}_3$ , který je díky své značné toxicitě zařazen na seznam bojových chemických látek. Mezi velice silné jedy patří také arsan  $\text{AsH}_3$  (arsin). Organické sloučeniny arzenu patří mezi silné jedy, některé jsou používány jako chemoterapeutika. Na přítomnost arzenu a jeho sloučenin jsou velice citlivé včely, které mohou sloužit jako citlivý bioindikátor arzenu v přírodním prostředí. Jako protijed při otravách arzenem se obvykle podávají rozpustné soli cesia (Barthelmy, 2010).

### 3.5.8 Molybden

Je stříbrobílý, lesklý, tvrdý kov nebo šedý prášek. Za normální teploty reaguje pouze s fluorem, s ostatními prvky reaguje pouze za vysokých teplot. V hydroxidech ani kyselinách, s výjimkou lučavky královské, se nerozpouští. V přírodě se molybden nejčastěji vyskytuje v minerálech molybdenit  $\text{MoS}_2$ , wulfenit  $\text{PbMoO}_4$  nebo powellit  $\text{CaMoO}_4$ . Nejvyšší obsah molybdenu (74,99 % Mo) ze všech nerostů má tugarinovit  $\text{MoO}_2$ . Pro průmyslovou těžbu má rozhodující význam nerost molybdenit, který se vyskytuje jako žíla, žilník, čočka, impregnační vrstva i zóna ve všech typech ložisek.

Výroba molybdenu se provádí redukcí oxidu molybdenového vodíkem ve fluidní peci. Produktem redukce je práškový molybden, který se slinováním při teplotě  $2400^\circ\text{C}$  převádí do kovové podoby. Oxid molybdenový potřebný k redukci se připravuje oxidačním pražením molybdenitu při teplotě okolo  $700^\circ\text{C}$ .

Molybden nalézá široké uplatnění zvláště v metalurgii pro výrobu speciálních magnetických, rychlořezných a kyselinovzdorných ocelí. Vysokopevné ocele s přísadou molybdenu se využívají zejména ve zbrojním průmyslu. Molybdenové dráty se používají v žárovkách jako nosiče žhavicích vláken a pro výrobu topných odporů do elektrických pecí.

Sulfid  $\text{MoS}_2$  se ve směsi s grafitem nebo syntetickými oleji používá jako průmyslové plastické mazivo. Molybdenan amonný  $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$  je důležité analytické činidlo pro důkaz kyseliny fosforečné (Greenwood a Earnshaw, 1993).

### 3.5.9 Olovo

Je to modrobílý, měkký kov. Povrch olova se na vzduchu rychle pokrývá vrstvičkou oxidu. Dobře je rozpustné v kyselině octové. Za zvýšené teploty se přímo slučuje s fluorem, chlorem, bromem, jodem, sírou, selenem a tellurem. Všechny rozpustné sloučeniny olova jsou jedovaté.

V přírodě se ryzí olovo nalézá velice vzácně, nejdůležitějším zdrojem olova jsou olověné rudy galenit  $\text{PbS}$ , cerusit  $\text{PbCO}_3$ . Vzácné nálezy ryzího olova pocházejí např. z Garpenberg Norra ve Švédsku, z Broken Hill v Austrálii a z východního Jakutska v Rusku. Nejvyšší obsah olova (92,83 % Pb) má nerost massicot  $\text{PbO}$ . Pro průmyslovou těžbu má rozhodující význam galenit, který se vyskytuje ve formě čoček ve vápencích, jako výplň krasových dutin i jako žíla nebo impregnační vrstva.

Výroba olova probíhá oxidací galenitu v olovářských konvertorech za vzniku  $\text{PbO}$  s jeho následující redukcí pomocí oxidu uhelnatého v šachtové peci. Struska ze šachtové pece má velký podíl arzenu, kobaltu, niklu a mědi a proto se dále zpracovává.

Olovo se používá k výrobě akumulátorů, v chemickém průmyslu, k výrobě krytů proti ionizujícímu záření a jako ochranný obal elektrických kabelů. Velký význam má při výrobě munice a některých druhů pájek, ložiskových kovů i dalších slitin. V minulosti se olovo často používalo k výrobě vodovodního potrubí. (Greenwood a Earnshaw, 1993).

## 3.6 Mikroorganismy a těžké kovy

Těžké kovy jsou na planetě Zemi zastoupeny ve velkých množstvích a mikroorganismy jsou jim vystaveny již od prvopočátku. Je otázkou, zda se mikrobiální systémy pro rezistenci na těžké kovy vyvinuly až jako odpověď na znečištění v poslední době, nebo se jejich stáří počítá na biliony let.

Vzhledem k nezastupitelné funkci těžkých kovů jako esenciálních prvků je nutné, aby byly mikroorganismy schopny tyto ionty přijímat. Proto si během evoluce vytvořily nejrozličnější typy transportních struktur.

Bioremediace je ekonomická, efektivní a z pohledu ochrany ŽP i jako bezpečná technologie, která nabízí další, nové způsoby čištění odpadních vod a kontaminovaných zemín. Biologické metody dekontaminace používají k rozkladu vlastní nebo inokulované mikroorganismy organických polutantů, které jsou obsažené v půdách nebo podzemních vodách. Za případné mikroorganismy jsou pokládány bakterie, které mají fyziologickou a metabolickou způsobilost rozkladu polutantů.

Gramnegativní bakterie, včetně zástupců pseudomonád, jsou velmi častěji používány k nejrozličnějším způsobům „ozdravování“ ŽP, jako je biosopce či biodegradace než bakterie grampozitivní. Jejich intenzivnější využívání je dáno větší odolností k nejrozličnějším látkám včetně těžkých kovů. Ta je pravděpodobně zapříčiněna jiným složením buněčné stěny – u gramnegativních bakterií je složitější.

Buněčná stěna gramnegativních bakterií je tvořena tenkou vrstvou peptidoglykanu, nad níž je membrána tvořená dvojvrstvou fosfolipidů a bílkovin vázaných po obou stranách této dvojvrstvy – vnější membrána. Fosfolipidy jsou tytéž co v cytoplazmatické membráně.

Velmi podstatnou složkou jsou poríny, které umožňují neselektivní průnik nepatrných hydrofilních molekul z vnějšího prostředí k cytoplazmatické membráně (Kaprálík 1986). Poríny bakterií rodu *Pseudomonas* jsou složeny z monomerních proteinů, tím se liší od jiných bakterií (např. *E. coli*), u kterých byly popsány poríny skládající se z proteinů trimerních (Garritý a kol. 2005).

Dalším významným prvkem vnější membrány jsou lipopolysacharidy vystupující do vnějšího prostoru a udávající antigenní specifitu buňky. Prostor mezi oběma membránami, periplazmatický prostor, je vyplněn řadou látek (živin, exportovaných metabolitů, hydrolytických enzymů). Zrovna vnější membrána buněčné stěny usměrňuje rezistenci vůči těžkým kovům – tvoří hydrofobní bariéru s mnoha chemickými skupinami (hydroxyl, karbonyl, karboxyl, sulfhydryl, aj.), díky nimž může vyvazovat ionty kovů (Viera a Volesky 2000).



Z tohoto důvodu jsou zástupci rodu *Pseudomonas* a *E. coli* využívány jako degradační kmeny látek znečišťující ŽP. Součástí technologie bioremediace je příprava optimálního prostředí, které stimuluje růst mikroorganismů a využití polutantů jako zdroje potravy a energie (Sutherland et al., 1991).

Toto byl argument pro výběr *Pseudomonas putida* a *Escherichia coli* k pokusu o snížení obsahu TK v kalech.

#### 4. VOLBA MIKROORGANISMŮ A ZPŮSOB JEJICH APLIKACE

K pokusu bylo použito 10 středně velkých kolonií kmenu *Escherichia coli* CCM 3954 z České sbírky mikroorganismů, ve 100 ml fyziologického roztoku na jeden vzorek. Česká sbírka mikroorganismů (CCM) je specializované vědecko-servisní pracoviště, které uchovává kultury mikroorganismů pro potřeby základního a aplikovaného výzkumu, pro biotechnologické využití, výuku, i pro rutinní mikrobiologické laboratoře. V pedagogické oblasti CCM zabezpečuje výuku předmětů Taxonomie prokaryot a Mikroskopické houby i vedení bakalářských a magisterských prací, včetně výchovy doktorských studentů. Výzkumné aktivity jsou zaměřeny na oblast taxonomie grampozitivních tyčků a koků (Firmicutes), gramnegativních tyčků (Proteobacteria) a vodních hyfomycetů. CCM uchovává více než 3 200 kmenů bakterií (asi 1 400 druhů) a 800 kmenů vláknitých hub (přibližně 550 druhů). Specializovaná sbírka vodních hyfomycetů obsahuje asi 500 kmenů (60 rodů se 130 druhy). V roce 2011 byla v rámci CCM založena sbírka stafylokokových bakteriofágů a jejich hostitelských kmenů. Řada kmenů uložených v CCM je unikátních a sbírka průběžně doplňuje svoje fondy, čímž aktivně přispívá k ochraně biodiverzity mikroorganismů ex situ. Sbírka dále uchovává tzv. patentové kultury, tj. mikroorganismy, které jsou součástí přihlášky vynálezu, neboť má, jako jediná sbírka v ČR, status mezinárodního ukládacího místa pro patentové řízení podle Budapešťské smlouvy. Od roku 2006 je CCM držitelem certifikátu EN ISO 9001:2008. CCM je registrována ve Světové federaci sbírek kultur (World Federation for Culture Collections, WFCC) pod pořadovým číslem 65 a je též členem Organizace evropských sbírek kultur (European Culture Collections' Organisation, ECCO). (<http://www.sci.muni.cz/ueb/struktura-ustavu/ceska-sbirka-mikroorganismu>)

Jako další mikroorganismus bylo použito 10 středně velkých kolonií kmenu *Pseudomonas putida* ze Sbírek mikroorganismů Ústavu mikrobiologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci v 10 ml fyziologického roztoku na jeden vzorek.

## 5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Tato část diplomové práce se věnuje ověření biodegradace v pokusu s bakteriemi *Pseudomonas putida* a *Escherichia coli* na vzorcích kalu z ČOV Vyškov. Pokus se uskutečnil na odděleném pracovišti Laboratoře Morava s. r. o., Studénka. Uvedená laboratoř také uskutečnila odběr a analýzy všech uvedených vzorků.

Na vzorky kalu byly použity plastové vzorkovnice. Inokula bakterií byla dodána ve skleněných vzorkovnicích. Promytí vzorku kalu bylo provedeno kojeneckou vodou AQUA ANNA, na obrázku 2. Tato voda byla vybrána z důvodu nezávadného obsahu a veřejně dostupné, ověřené laboratorní analýzy.

Filtrace roztoku proběhla přes filtrační papír. Výluh a všechny použité materiály byly odborně zneškodněny v Laboratoři Morava.

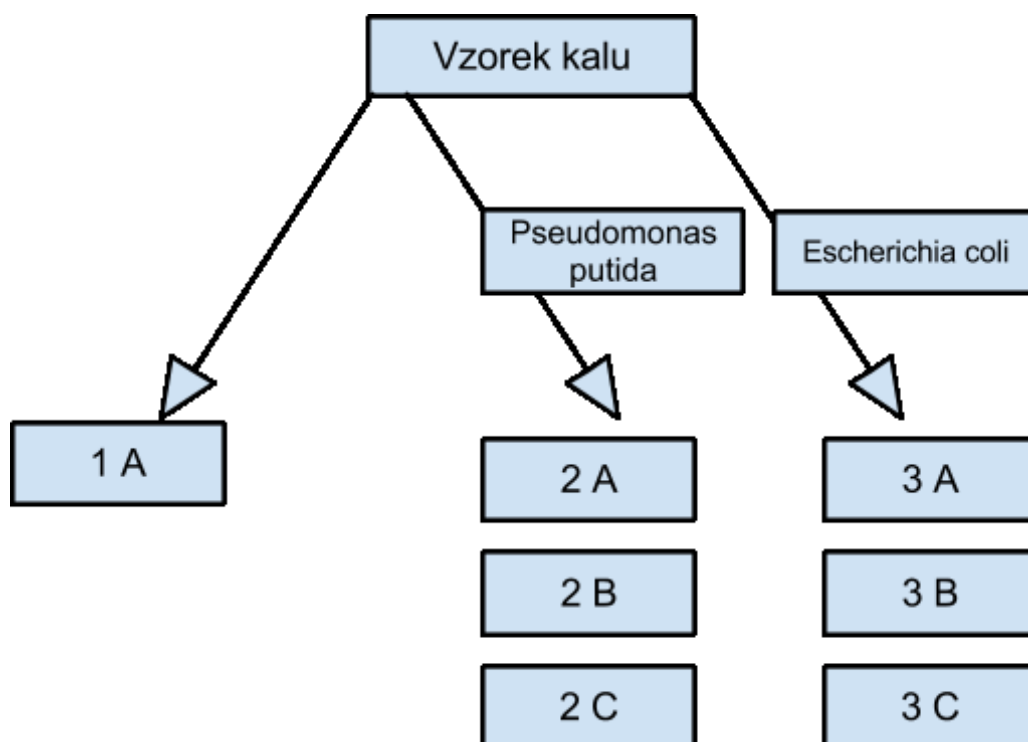


Obrázek 2 Kojenecká voda AQUA ANNA (foto autor)

### 5.1 Odběr kalů z ČOV

Vzorky kalů byly odebrány do uzavíratelné plastové vzorkovnice na ČOV Vyškov na výstupu z odvodňovacího zařízení z přistaveného kontejneru vzorkačkou Laboratoře MORAVA s. r. o., Studénka. Tento vzorek byl promíchán a rozdělen do sedmi nádob. Nádoby byly označeny dle obrázku 3. Očkování bylo prováděno stejnou očkovací látkou vždy na tři vzorky kalu, aby bylo možné zjistit průměrné množství TK v těchto vzorcích. Vzorek s kalem označený 1A byl následovně podroben analýze na obsah vybraných těžkých

kovů v sušině, pH a sušinu. Výsledky jeho analýzy sloužily pro srovnání s výsledky analýz očkovaných vzorků.



Obrázek 3 Schéma rozdělení vzorků

### 5.2 Očkování *Pseudomonas putida*

Vzorky kalu označené 2A, 2B a 2C, v plastových vzorkovnicích s obsahem kalu 1,00 kg, jsem naočkoval inokulem 10 středně velkých kolonií kmenu *Pseudomonas putida* v 10 ml fyziologického roztoku na jeden vzorek. Bakterie byly suspendovány do nádob a fyziologického roztoku (8,9g NaCl /1000ml destilované vody). Fyziologický roztok byl sterilizován v autoklávu 30 min / 121°C / 2,13 baru, viz obrázek 4.



Obrázek 4 Vzorky *Pseudomonas putida* (foto autor)

Vzorkovnice, na obrázku 5, byly umístěny při stálé teplotě 25° C do určeného prostoru laboratoře po dobu 72 hodin. Po uplynutí této doby byly vzorky propláchnuty 1000 ml balené, pitné, kojenecké vody značky, deklarované složením viz příloha č. 1.

Roztok byl přefiltrován přes filtrační papír a filtrovaný vzorek poté předán k následné analýze na zjištění obsahu TK.



Obrázek 5 Vzorky kalu s *Pseudomonas putida* (foto autor)

### 5.3 Očkování *Escherichia coli*

Vzorky kalu označené 3A, 3B a 3C, v plastových vzorkovnicích s obsahem 1,00 kg odváženého kalu, jsem naočkoval inokulem 10 středně velkých kolonií kmenu *Escherichia coli* ve 100 ml fyziologického roztoku na jeden vzorek. Bakterie byly suspendovány do

nádob a fyziologického roztoku (8,9g NaCl / 1000ml destilované vody). Fyziologický roztok byl sterilizován v autoklávu 30 min / 121°C / 2,13 baru, viz obrázek 6.



*Obrázek 6 Vzorky Escherichia coli (foto autor)*

Vzorkovnice, obrázek 7, byly umístěny při stálé teplotě 25° C do určeného prostoru laboratoře po dobu 72 hodin. Po uplynutí této doby byly vzorky propláchnuty 1000 ml balené, pitné, kojenecké vody značky AQUA ANNA, deklarované složením. Roztok byl přefiltrován přes filtrační papír a přefiltrovaný vzorek předán k následné analýze na zjištění obsahu TK.



*Obrázek 7 Vzorky kalu s Escherichia coli (foto autor)*

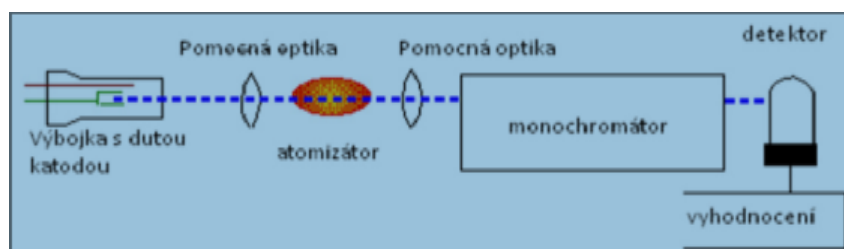
## 6. VÝSLEDKY POKUSU

### 6.1 Analýza kontrolního vzorku kalu 1A

Výsledek analýzy kontrolního vzorku 1A s obsahem TK v sušině je v tabulce 4. Analýzu provedla Laboratoř MORAVA s. r. o., Studénka metodou AAS, obrázek 9. Principem je absorpce záření volnými atomy v plynném stavu, které vznikají v atomizátorech. Tyto atomy absorbují fotony určité energie, záření o určité vlnové délce. Energetická hodnota fotonů je charakteristická pro určitý druh atomů a počet absorbovaných fotonů je mírou množství stanovovaných atomů.

Metoda umožňuje stanovení více než 60 prvků, kovových prvků polokovů. Monochromatické záření vhodného zdroje je absorbováno volnými atomy stanovovaného prvku v základním stavu. Neabsorbované záření prochází monochromátorem, dopadá na fotonásobič a vzniklý proudový signál je po zesílení indikován elektrickým indikátorem, digitálním záznamem nebo registrován jako absorpce nebo absorbance.

Vhodným zdrojem atomů ve volném stavu jsou plameny nebo elektrotermické atomizátory. Primární záření je modulováno, aby nerušila spojitá emise atomizátoru nebo souběžně probíhající emise atomů. Schéma AAS je na obrázku 8. (Komárek, 2000).



Obrázek č. 8 Schéma AAS (Komárek, 2000)





Obrázek 9 Laboratorní přístroj AAS AVANTA GBC PAL 3000 AUTO SAMPLER (foto autor)

Tabulka 4 Výsledky analýzy vzorku 1A

Prvek	Množství	Jednotka
As	2,6	mg/kg v sušině
Cd	1,21	mg/kg v sušině
Cr	49,6	mg/kg v sušině
Cu	140	mg/kg v sušině
Hg	1,00	mg/kg v sušině
Mo	6,34	mg/kg v sušině
Ni	22,4	mg/kg v sušině
Pb	24,3	mg/kg v sušině
Zn	853	mg/kg v sušině
Sušina	8,41	%
pH (H <sub>2</sub> O)	6,93	



## 6.2 Analýza vzorků kalu 2A, 2B a 2C

Výsledky analýzy vzorků 2A, 2B a 2C, do kterých byla očkovaná *Pseudomonas putida*, jsou v tabulce 5. Analýzu provedla Laboratoř MORAVA s. r. o., Studénka metodou AAS.

Tabulka 5 Výsledky analýzy vzorků 2A, 2B, 2C

Prvek	2A	2B	2C	ARITM. PRŮMĚR	Jednotka
As	2,57	3,41	3,65	3,21	mg/kg v sušině
Cd	1,53	1,36	1,25	1,38	mg/kg v sušině
Cr	48,1	47,4	46,5	47,33	mg/kg v sušině
Cu	128	131	130	129,67	mg/kg v sušině
Hg	0,909	1,06	1,04	1,003	mg/kg v sušině
Mo	8,95	1,19	9,3	6,48	mg/kg v sušině
Ni	26,7	25,4	24,4	25,5	mg/kg v sušině
Pb	22,6	23,2	25,4	23,73	mg/kg v sušině
Zn	791	836	830	819	mg/kg v sušině
Sušina	8,92	9,69	10,22	9,61	%
pH (H <sub>2</sub> O)	7,01	6,93	7,02	6,98	

## 6.3 Analýza vzorků kalu 3A, 3B a 3C

Výsledky analýzy vzorků 3A, 3B a 3C, naočkovaných *Escherichia coli*, jsou v tabulce 6. Analýzu provedla Laboratoř MORAVA s. r. o., Studénka metodou AAS.

Tabulka 6 Výsledky analýzy vzorků 3A, 3B, 3C

Prvek	3A	3B	3C	ARITM. PRŮMĚR	Jednotka
As	3,8	3,42	2,29	3,17	mg/kg v sušině
Cd	1,14	2,11	0,83	1,36	mg/kg v sušině
Cr	47,7	51,8	39,2	46,23	mg/kg v sušině
Cu	130	131	129	130	mg/kg v sušině
Hg	1,48	0,805	0,948	1,078	mg/kg v sušině
Mo	8,66	4,85	1,49	5,00	mg/kg v sušině
Ni	24	22,9	22,7	23,2	mg/kg v sušině
Pb	22,9	23,3	20,2	22,13	mg/kg v sušině
Zn	852	827	753	810	mg/kg v sušině
Sušina	8,98	9,91	13,45	10,78	%
pH (H <sub>2</sub> O)	5,91	7,00	7,17	6,69	

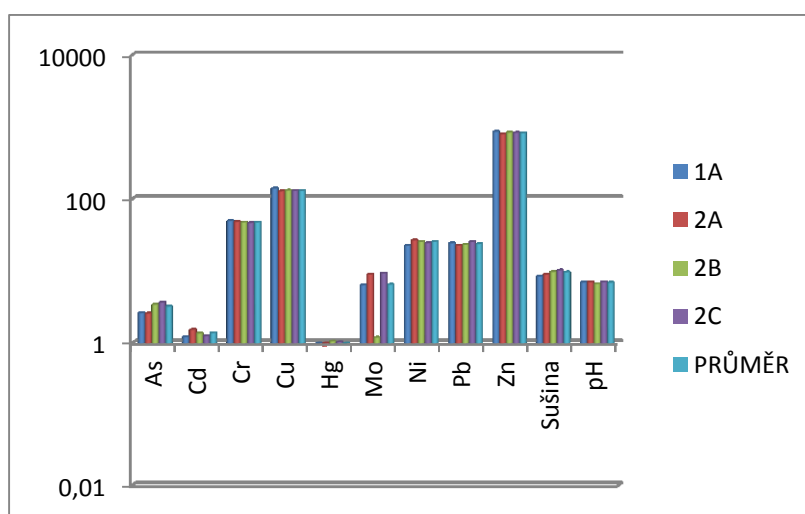
## 7. ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

### 7.1 Hodnocení testů s aplikací *Pseudomonas putida* 2A, 2B a 2C

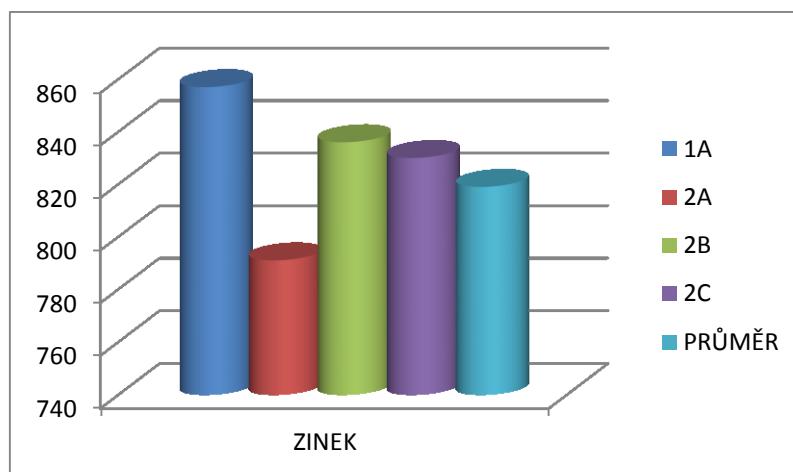
V tabulce 6 najdeme srovnání analýzy nenaočkovaného, původního kalu a analýz vzorků 2A, 2B a 2C a aritmetického průměru těchto výsledků. Z nich vyplývá, že při tomto experimentu se nejvíce snížila, oproti referenčnímu vzorku, množství zinku, mědi a chromu. Průměr analýz se ve srovnání s referenčním vzorkem neměnil u rtuti. Naopak se zvětšilo množství kadmia a niklu. V porovnání arzenu, rtuti, olova jsou výsledky značně kolísavé, vykazují jak hodnoty nižší než u referenčního vzorku, tak i vyšší. Největší rozdíly pak vykazuje molybden, viz tabulka 7, grafy 1, 2.

Tabulka 7 Srovnání výsledků vzorků 1A, 2A, 2B, 2C, a jejich průměru

Prvek	1A	2A	2B	2C	PRŮMĚR
As	2,6	2,57	3,41	3,65	3,21
Cd	1,21	1,53	1,36	1,25	1,38
Cr	49,6	48,1	47,4	46,5	47,33
Cu	140	128	131	130	129,67
Hg	1	0,909	1,06	1,04	1,00
Mo	6,34	8,95	1,19	9,3	6,48
Ni	22,4	26,7	25,4	24,4	25,50
Pb	24,3	22,6	23,2	25,4	23,73
Zn	857	791	836	830	819,00
Sušina	8,41	8,92	9,69	10,22	9,61
pH	6,93	7,01	6,63	7,02	6,89



Graf 1 Srovnání výsledků vzorků 1A, 2A, 2B, 2C, a jejich průměr



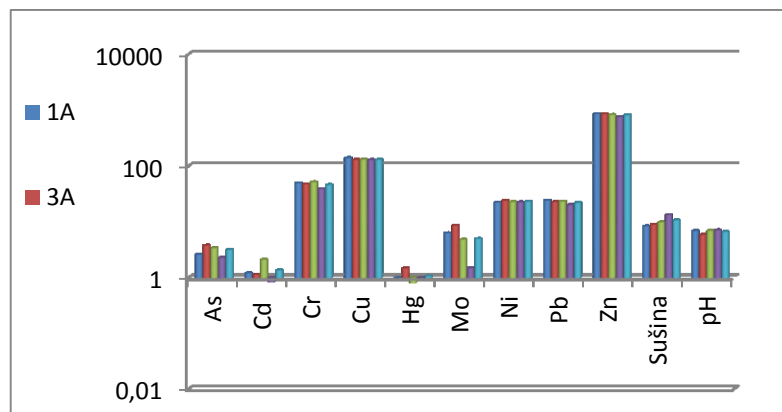
Graf 2 Srovnání výsledků vzorků 1A, 2A, 2B, 2C, a jejich průměru u zinku

## 7.2 Hodnocení pokusu s aplikací *Escherichia coli* 3A, 3B a 3C

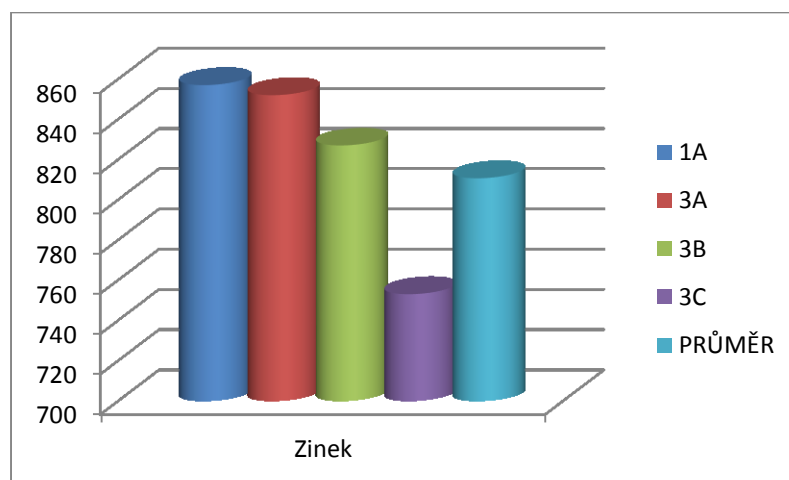
V tabulce 8 najdeme srovnání analýzy nenaočkovaného, původního kalu a analýz vzorků 3A, 3B a 3C a aritmetického průměru těchto výsledků. Z výsledků je zřejmé, že při tomto pokusu se nejvíce snížila, oproti referenčnímu vzorku, množství zinku, mědi a olova. Ostatní výsledky jsou velmi kolísavé a vykazují rozdílné hodnoty u jednotlivých vzorků vzhledem ke vzorku referenčnímu. Ve srovnání průměru všech tří vzorků a referenčního vzorku je snížení zřejmé u chromu, molybdenu, ostatní hodnoty jsou i v průměru vyšší než referenční vzorek. Největší rozdíly pak vykazuje molybden, viz tabulka 8, grafy 3 a 4.

Tabulka 8 Srovnání výsledků vzorků 1A, 3A, 3B, 3C, a jejich průměru

Prvek	1A	3A	3B	3C	PRŮMĚR
As	2,6	3,8	3,42	2,29	3,17
Cd	1,21	1,14	2,11	0,83	1,36
Cr	49,6	47,7	51,8	39,2	46,23
Cu	140	130	131	129	130,00
Hg	1	1,48	0,805	0,948	1,08
Mo	6,34	8,68	4,85	1,49	5,01
Ni	22,4	24	22,9	22,7	23,20
Pb	24,3	22,9	23,3	20,2	22,13
Zn	857	852	827	753	810,67
Sušina	8,41	8,98	9,91	13,45	10,78
pH	6,93	5,91	7	7,17	6,69



Graf 3 Srovnání výsledků vzorků 1A, 3A, 3B, 3C, a jejich průměru



Graf 4 Srovnání výsledků vzorků 1A, 3A, 3B, 3C, a jejich průměru u zinku

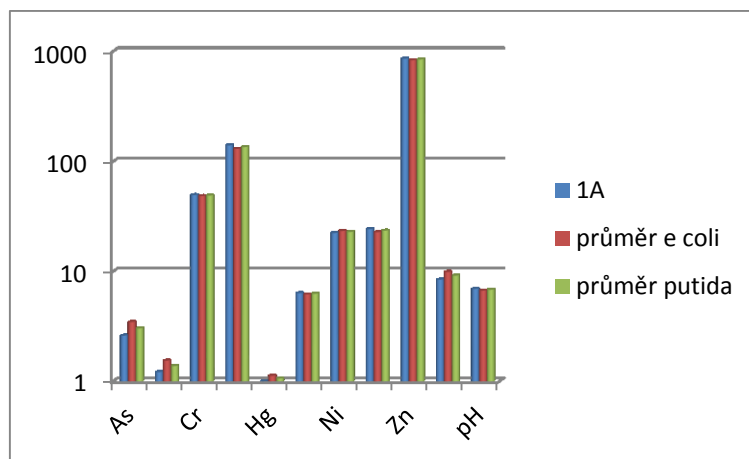
### 7.3 Vzájemné porovnání pokusu při aplikaci *Escherichia coli* a *Pseudomonas putida*

V tabulce 8 najdeme srovnání analýzy nenačkovaného, původního kalu, aritmetického průměru výsledku analýz vzorků 2A, 2B a 2C a aritmetického průměru výsledku analýz vzorků 3A, 3B a 3C. Z těchto výsledků je zřejmé, že pokud došlo ke snížení množství TK v kalech z ČOV, tak pak hlavně aplikací *Escherichia coli*. V tomto

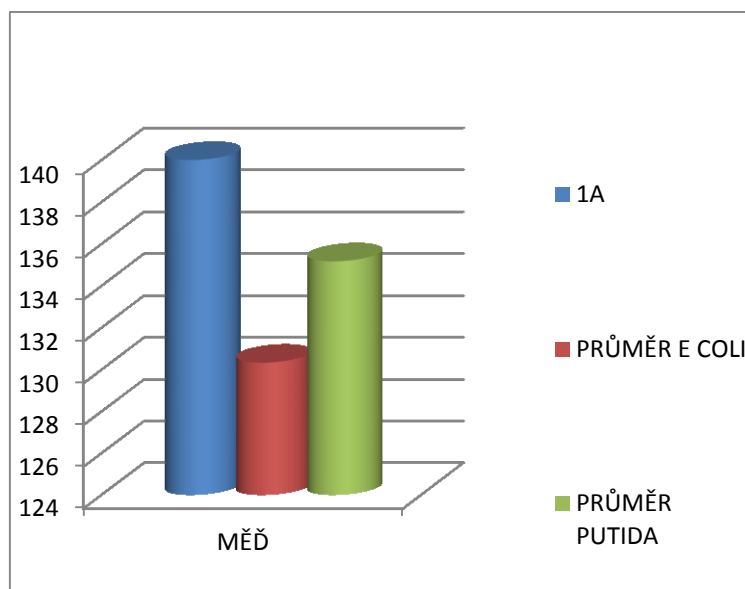
případě došlo ke snížení obsahu mědi, molybdenu, olova a zinku, jak ukazují grafy 6, 7, 8, 9. Aplikací *Pseudomonas putida* došlo ke snížení obsahu mědi, molybdenu, olova a zinku oproti referenčnímu vzorku, ale v porovnání s aplikací *Escherichia coli* bylo toto množství větší.

Tabulka 9 Srovnání výsledků vzorků 1A, průměru *Escherichia coli* a *Pseudomonas putida*

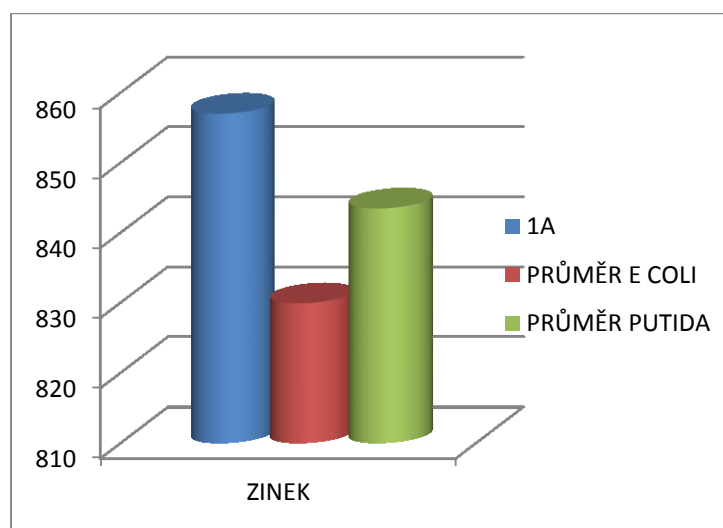
Prvek	1A	průměr <i>e coli</i>	průměr <i>putida</i>
As	2,6	3,46	3,03
Cd	1,21	1,54	1,38
Cr	49,6	48,58	49,09
Cu	140	130,33	135,17
Hg	1	1,12	1,06
Mo	6,34	6,18	6,26
Ni	22,4	23,37	22,89
Pb	24,3	22,78	23,54
Zn	857	829,89	843,45
Sušina	8,41	9,89	9,15
pH	6,93	6,69	6,81



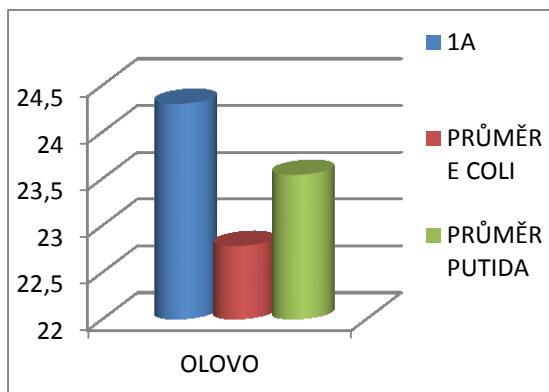
Graf 5 Srovnání výsledků vzorků 1A, průměru *Escherichia coli* a *Pseudomonas putida*



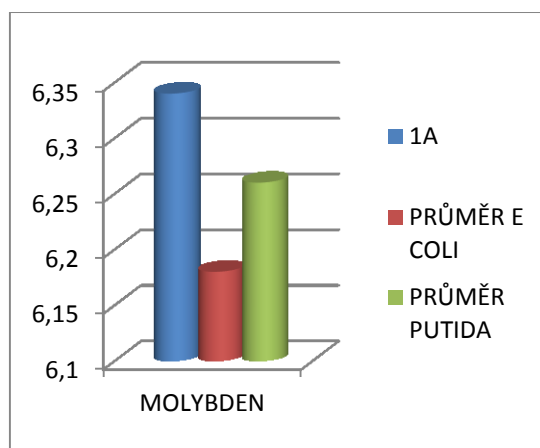
Graf 6 Srovnání výsledků vzorků 1A, průměru *Escherichia coli* a *Pseudomonas putida* u mědi



Graf 7 Srovnání výsledků vzorků 1A, průměru *Escherichia coli* a *Pseudomonas putida* u zinku



Graf 8 Srovnání výsledků vzorků 1A, průměru *Escherichia coli* a *Pseudomonas putida* u olova



Graf 9 Srovnání výsledků vzorků 1A, průměru *Escherichia coli* a *Pseudomonas putida* u molybdenu

## 8. ZÁVĚR

Celkově lze konstatovat, že využití mikroorganismů při snižování škodlivin v odpadech je velká výzva do budoucnosti. Je v tom velký potenciál, který je nutno probádat a využívat správným směrem. Je potřeba si ale uvědomit, abychom odpad, který je využitelný, nedegradovali nesprávným směrem a nevytvořili z jeho kterékoliv složky škodlivější látku, než byl počáteční, vstupní odpad. Zde stojí velký úkol před mikrobiology. Jednak vyjasnit vztahy mezi mikroorganismy a škodlivými látkami tak, aby zavádění nových technologií bylo skutečným přínosem jak pro člověka, tak i pro ŽP celkově.

Cílem této diplomové práce byl pokus o snížení množství arzenu, kadmia, chromu, mědi, rtuti, molybdenu, niklu, olova a zinku v kalech z ČOV, pomocí mikroorganismů *Escherichia coli* a *Pseudomonas putida*. Výsledky ukazují, že ke snížení došlo. Jsou však velmi rozporuplné, protože u chromu, mědi, zinku a olova došlo jednoznačně ke snížení a naopak u arzenu, kadmia, niklu došlo ke zvýšení. Rozdíly jsou mezi aplikací jednotlivých mikroorganismů (*Pseudomonas putida*, *Escherichia coli*), ale i mezi vzorky se stejnou aplikací (2A, 2B, 2C i mezi 3A, 3B, 3C). Není proto jednoznačné, nakolik je vhodný způsob aplikace a výběr mikroorganismů.

Realizace pokusu byla problematická v získání vhodných mikroorganismů a získání vhodného prostředí pro provedení pokusu.

Cíle stanovené v diplomové práci, vyzkoušet možnost snížení obsahu těžkých kovů v kalech z ČOV, byly splněny. Je zřejmá funkce mikroorganismů v biodegradačních procesech. Vyplývá z ní pozitivní zkušenost, že obsah TK v kalech z ČOV lze snížit. Bude to cílem mého dalšího výzkumu.



## Seznam použité literatury a zdrojů

[Biotechnologie [online]. [cit. 2013-03-03 ]. Dostupný na WWW:  
<http://www.inovace.cz/biotechnologie/co-zamorime--to-vycistime---bioremediace/>

BARTHELMY, David. *Mineral Species containing Arsenic*. In: Mineralogy database [online]. 2010 [cit. 2012-09-01]. Dostupné z: <http://webmineral.com/.../Chem-As.shtml>.

BINDZAR, J.; et al. *Základy úpravy a čištění vod*, 1. vydáníth ed. [online]; VŠCHT Praha: Praha, 2009. [http://vydavatelstvi.vscht.cz/katalog/uid\\_isbn-978-80-7080-729-3/](http://vydavatelstvi.vscht.cz/katalog/uid_isbn-978-80-7080-729-3/) (accessed Dec 27, 2012).

Biodegradace a biodeteriorace-sylabus k předmětu. Praha : VŠCHT Praha [online]. [cit.2013-03-04]. Dostupný na WWW:  
<http://www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/biodegbiodet.pdf>.

Bioremediace [online]. [cit. 2009-03-06]. Dostupný na WWW:  
<[http://is.muni.cz/do/1499/el/estud/prif/ps06/3062932/bioremediace\\_FRVS\\_2006-2.pdf](http://is.muni.cz/do/1499/el/estud/prif/ps06/3062932/bioremediace_FRVS_2006-2.pdf)>.

BITTON, G., KOOPMAN, B., AGAMI, O. (1992): *MetPad: A bioassay for rapid assessment of heavy metal toxicity*. *Water Environmental Research* 64, 834-836.

DAY, K.E., DUTKA, B.J., KWAN, K.K., BATISTA, N., REYNOLDSON, T.B., METCALFE- SMITH, J.L. (1995): Correlations between solid-phase microbial assay, whole-sediment toxicity tests with macroinvertebrates and in situ benthic community structure. *The Journal of Great Lakes Research* 21, 192-206.

DEMAIN, A. L. AND DAVIES, E.: *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*, ASM Press, Washington, D.C., 1999, p. 666-681.

DOHÁNYOS, Michal: *Efektivní využití a likvidace čistírenských kalů*. Biom.cz [online]. 2006-05-09 [cit. 2013-04-07]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/efektivni-vyuziti-a-likvidace-cistirenskych-kalu>>. ISSN: 1801-2655.

FEČKO, P. aj. *Environmentální biotechnologie*. Ostrava: VŠB -Technická univerzita Ostrava. 2004. 180 s. ISBN 80-248-0700-9.

FRANK, K., ČEJKA, J. AND KARBAN, Z. (1996). *Praktické zkušenosti s přípravou projektů a realizace využívání stabilizovaných kalů z komunálních ČOV v zemědělství formou přímé aplikace na půdu*. Sborník přednášek: Zkušenosti z praktického využívání čistírenských kalů v zemědělství. Plzeň, Česká vědeckotechnická vodohospodářská společnost: 11-42.

GERBA, C.P. (2000): *Domestic Wastes and Waste Treatment*. In: Maier, R.M., Pepper, I.L., and Gerba, C.P. (Eds.): *Environmental microbiology*. Academic Press, San Diego. ISBN 0-12-497570-4. pp.505-534.

GREENWOOD, N. N., EARNSHAW, A. *Chemie prvků Sv. 2*. Jursík F.. 1. vyd. Praha : Informatorium, 1993. 842 s. ISBN 80-85427-38-9.

HARTIG, K. (2003): *Současná a blízká budoucnost v spalování kalů čistíren odpadních vod*. V: Sborník semináře Spalování kalů z čistíren odpadních vod, 10.– 11.9. 2003, Brno, Česká republika.

<http://www.aquaanna.cz/kvalita-a-slozeni-kojenecke-vody/>

JENÍČEK, P. (2000). *Hygienizace kalů v rámci čistírenského procesu*. Sborník semináře Možnosti využití kalů z ČOV, duben 2000. Praha - Ruzyně, Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha: 31-38.

KOMÁREK, J. *Atomová absorpční spektrometrie*. 1. vyd. Brno : Masarykova univerzita, 2000. 85 s. ISBN 80-210-2500-X .

LYČKOVÁ, Barbora, FEČKO, Peter a KUČEROVÁ, Radmila. *Zpracování kalů*. Ostrava: VŠB - Technická univerzita Ostrava, 2009. 87 s. ISBN 978-80-248-1921-1.

PETRUŽELA, L.; KAŠTÁNKOVÁ, J. *Biotechnologie, věda pro 3. tisíciletí*. 1. vyd. Praha: Nakladatelství Horizont, 1989. 252 s. ISBN 40-030-89.

PITTER Pavel: *Hydrochemie*. 4th ed. Praha : VŠCHT Praha, 2009. P. 0001. ISBN 978-80-7080-701-9.

*Pseudomonas* [online]. [cit. 2009-03-12]. Dostupný na WWW: <[http://genome.jgipsf.org/finished\\_microbes/psepu/psepu.home.html](http://genome.jgipsf.org/finished_microbes/psepu/psepu.home.html)>.

RACLAVSKÁ, H. *Technologie zpracování a využití kalů z ČOV*. Ostrava: VŠB - Technická univerzita Ostrava, 2007. ISBN 978-80-248-1600-5.

SAKAI Y., FUKASE T., YASUI H., SHIBATA M. (1997): *An activated process Without Excess sludge production. „Wastewater Sludge Waste or Resource? - International Conference on Sludge Management“*, Proceedings Part one. pp. 90-97., Czestochowa, 26-28. June 1997, Poland.

SLEJŠKA, Antonín: *Toxicita zinku a ČSN 46 5735 "Průmyslové komposty"*. *Biom.cz* [online]. 2002-07-31 [cit. 2013-02-09]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/toxicita-zinku-a-csn-46-5735-prumyslove-komposty>>. ISSN: 1801-2655.

SVANSTRÖM M., MODELL M., TESTER J. (2003): *Direct energy recovery from primary and secondary sludges by supercritical water oxidation*. IWA International Specialist Conf. BIOSOLIDS 2003 – Wastewater Sludge as a Resource (FRANK, 1996)urce, NTNU Trondheim, Norsko 23-25. June 2003.

ŠŤASTA, P., BORÁŇ, J., BÉBAR, L., ORAL, J., SPONAR, J. A STEHLÍK, P. *Alternativní možnosti zpracování čistírenských kalů*. V: Sborník semináře Spalování kalů z čistíren odpadních vod ; 10. – 11.9 2003, Brno, Česká republika.

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský v Brně, Odbor agrochemie, půdy a výživy rostlin (2011): *Kontrola a monitoring cizorodých látek v zemědělské půdě a vstupech do půdy, Zpráva za rok 2011, Kontrola kalů ČOV*. Brno, Česká republika.

[www.irz.cz](http://www.irz.cz) internetové stránky Integrovaného registru znečištění ČR

www.recetox.cz internetové stránky Výzkumného centra pro chemii životního prostředí a ekotoxikologii

ZÁBRANSKÁ, J. (2004). *Technologie stabilizace čistírenského kalu s hygienizačním účinkem*. Sborník semináře Kaly z čistíren odpadních vod, 24. - 25. února 2004. A. Pecinová and O. Halousková. Seč - Ústupky, Vodní zdroje Ekomonitor s. r. o.: 26-32.

Vyhláška č. 382/2001 Sb., Vyhláška Ministerstva životního prostředí o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě.

Vyhláška č. 474/2000 Sb., Vyhláška Ministerstva zemědělství o stanovení požadavků na hnojiva.

ČSN 46 5735 (1991): Průmyslové komposty. Technická norma.

## Seznam tabulek

Tabulka 1 Nejvyšší přípustná množství sledovaných

Tabulka 2 Nejvyšší přípustná množství sledovaných látek v surovině pro výrobu kompostu (ČSN 465735)

Tabulka 3 Nejvyšší přípustná množství sledovaných látek v kalech pro jejich použití na zemědělské půdě

Tabulka 4 Výsledky analýzy 1A

Tabulka 5 Analýza vzorků 2A, 2B, 2C

Tabulka 6 analýza vzorků 3A, 3B, 3C

Tabulka 7 Srovnání výsledků vzorků 1A, 2A, 2B, 2C, a jejich průměru

Tabulka 8 Srovnání výsledků vzorků 1A, 3A, 3B, 3C, a jejich průměru

Tabulka 9 Srovnání výsledků vzorků 1A, průměru Escherichia coli a Pseudomonas putida

## Seznam obrázků

Obrázek 1 Přehled metod úpravy a zpracování kalů (Frank 1996)

Obrázek 2 Kojenecká voda AQUA ANNA (foto autor)

Obrázek 3 Schéma rozdělení vzorků

Obrázek 4 Vzorky *Pseudomonas putida* (foto autor)

Obrázek 5 Vzorky kalu s *Pseudomonas putida* (foto autor)

Obrázek 6 Vzorky *Escherichia coli* (foto autor)

Obrázek 7 Vzorky kalu s *Escherichia coli* (foto autor)

Obrázek 8 Schéma AAS (Komárek,2000)

Obrázek 9 Laboratorní přístroj AAS AVANTA GBC PAL 3000 AUTO SAMPLER (foto autor)

## Seznam grafů

Graf 1 Srovnání výsledků vzorků 1A, 2A, 2B, 2C, a jejich průměr

Graf 2 Srovnání výsledků vzorků 1A, 2A, 2B, 2C, a jejich průměru u zinku

Graf 3 Srovnání výsledků vzorků 1A, 3A, 3B, 3C, a jejich průměru

Graf 4 Srovnání výsledků vzorků 1A, 3A, 3B, 3C, a jejich průměru u zinku

Graf 5 Srovnání výsledků vzorků 1A, průměru *Escherichia coli* a *Pseudomonas putida*

Graf 6 Srovnání výsledků vzorků 1A, průměru *Escherichia coli* a *Pseudomonas putida* u mědi

Graf 7 Srovnání výsledků vzorků 1A, průměru *Escherichia coli* a *Pseudomonas putida* u zinku

Graf 8 Srovnání výsledků vzorků 1A, průměru *Escherichia coli* a *Pseudomonas putida* u olova

Graf 9 Srovnání výsledků vzorků 1A, průměru *Escherichia coli* a *Pseudomonas putida* u molybdenu